

INKRIMINASI VEKTOR MALARIA DAN IDENTIFIKASI PAKAN DARAH PADA NYAMUK *ANOPHELES* SPP DI KECAMATAN BOROBUDUR, KABUPATEN MAGELANG

Umi Widyastuti

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Vektor dan Reservoir Penyakit, Salatiga

Email: umiwydyastuti@gmail.com

MALARIA VECTOR INCRIMINATION AND BLOOD MEALS IDENTIFICATION OF ANOPHELENE MOSQUITOES IN BOROBUDUR SUBDISTRICT, MAGELANG REGENCY

Abstrak

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Kabupaten Magelang, khususnya di Kecamatan Borobudur. Annual Parasite Incidence (API) dua tahun terakhir sebesar 0,19 pada tahun 2004 dan meningkat 0,34 pada tahun 2005, menunjukkan status Low Case Incidence (LCI). Kasus malaria di daerah tersebut sehubungan dengan adanya beberapa spesies nyamuk Anopheles yang potensial sebagai vektor malaria. Kompetensi vektorial nyamuk Anopheles di Kecamatan Borobudur belum banyak dilaporkan, khususnya dalam hal kerentanannya terhadap Plasmodium dan sifat antropofilik (kesukaan menghisap darah manusia). Berbagai spesies seperti Anopheles aconitus, An. maculatus, dan An. balabacensis merupakan tersangka vektor malaria di daerah tersebut. Tujuan penelitian ini adalah: a). mendeteksi antigen protein circum sporozoit P. falciparum atau P. vivax pada nyamuk Anopheles sp dengan teknik Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Elisa) dan b). mengidentifikasi pakan darah manusia pada nyamuk Anopheles spp dengan teknik Elisa. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-Mei 2006 di 2 desa HCI yaitu di Giripurno dan Giritengah, Kecamatan Borobudur. Penelitian dilakukan dengan menangkap nyamuk yang istirahat di dalam dan luar rumah pada malam hari (18.00-12.00) dan pagi hari (06.00-08.00) sesuai dengan metode WHO, 2003. Nyamuk Anopheles spp dipisahkan berdasarkan spesies untuk dihitung kepadatannya. Selanjutnya dilakukan pembedahan ovarium untuk mengetahui paritasnya (parous atau nulliparous). Anopheles spp parous (4 spesies yaitu Anopheles aconitus, An. maculatus, An. balabacensis dan An. barbirostris) diperiksa kondisi abdomennya untuk kepentingan pengujian dengan ELISA. Keempat spesies nyamuk parous (semua kondisi abdomen yaitu unfed, blood fed, half gravid dan gravid) diambil bagian dada-kepala untuk kepentingan Elisa sporozoit). Nyamuk parous dengan kondisi blood fed dan half gravid diambil bagian abdomennya, dipencet di atas kertas Whatman dan digunakan untuk ELISA pakan darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa An. aconitus rentan terhadap P. falciparum dengan angka sporozoit sebesar 0,07 % di Giripurno dan sporozoit P. vivax tidak ditemukan, sedangkan di Giritengah, An. balabacensis rentan terhadap P. falciparum dengan angka sporozoit 4,17 % dan sporozoit P. vivax tidak ditemukan. Proporsi An. aconitus menghisap darah manusia (HBI) sebesar 10,34 % di Giripurno dan 5,97 % di Giritengah. An. balabacensis dan An. barbirostris menunjukkan HBI sebesar 37,50 % dan 5,88% di Giritengah. Angka paritas dan kepadatan An. aconitus di Giripurno relatif lebih tinggi dibanding di Giritengah, sebaliknya An. balabacensis lebih tinggi di Giritengah dibanding di Giripurno.

Kata kunci: malaria, Elisa sporozoit, Elisa pakan darah.

Abstract

Malaria is still a health problem in Magelang Regency, especially in the Borobudur Subdistrict. The Annual Parasite Incidence (API) in the last two years were 0.19 in 2004 and increased 0.34 in 2005, were considered as malarious areas with Low Case Incidence (LCI). The increase of malaria cases in Borobudur Subdistrict is related to the presence of Anopheline mosquitoes which serve as potential vector. The vectorial competence of Anopheline mosquitoes in Borobudur Subdistrict has not been reported yet. Several species such as Anopheles aconitus, An. maculatus, An. barbirostris and An. balabacensis are suspected as potential malaria vectors in

this area. The objective of this study was to determine the *Anopheles* mosquitoes susceptibility to *Plasmodia* and its anthropophilic characteristic. The susceptibility of mosquito to *Plasmodia* was measured by detection of sporozoite protein antigen (Circum Sporozoite Protein/ CSP) of *P. falciparum* or *P. vivax* on the head-thorax of all parous mosquitoes. The anthropophilic characteristic was measured by detection of human blood on the abdomen of blood fed and half gravid mosquitoes. Both of these were done by Elisa technique. A study was conducted from Januari to May 2001 in two HCI villages i.e: Giripurno and Giritengah, Borobudur Subdistrict. The *Anopheles* mosquitoes were collected using the resting mosquito collection technique both indoors and outdoors, at night (18.00-24.00) as well as in the morning (06.00-08.00) according to the WHO guideline. The density of *Anopheles* (4 species) was calculated and its parity were determined by microscopic ovary dissection. The result showed that *An. aconitus* in Giripurno was susceptible to *P. falciparum* with a sporozoite rate of 0.07 %. However, CSP antigen of *P. falciparum* was not detected in the head-thorax of mosquitoes from Giritengah. *An. balabacensis* in Giritengah was susceptible to *P. falciparum* with a sporozoite rate of 4.17 %. However, CSP antigen of *P. falciparum* was not detected in the head-thorax of mosquitoes from Giripurno. CSP antigen of *P. vivax* was also negative in the head-thorax of mosquitoes both from Giripurno and Giritengah villages. The proportion of *An. aconitus* fed on human (Human Blood Index / HBI) was 10.34 % in Giripurno and 5.97 % in Giritengah. HBI of *An. balabacensis* and *An. barbirostris* were 37.50 % and 5.88 % respectively in Giritengah. The parity rate of *An. aconitus* and its density was found higher in Giripurno than in Giritengah. In contrast, the parity rate and density of *An. balabacensis* was found higher in Giritengah than in Giripurno.

Keywords: malaria, sporozoite Elisa, blood meals identification

Submitted: 10 Mei 2013, Review 1: 15 Mei 2013, Review 2: 17 Mei 2013, Eligible article 24 Mei 2013

PENDAHULUAN

Malaria masih merupakan masalah kesehatan di Kecamatan Borobudur. Giripurno, Giritengah, dan Majaksingi antara lain merupakan desa-desa endemis yang berbatasan langsung dengan desa-desa endemis malaria di Kabupaten Kulonprogo DIY (Din.Kes. Kab. Magelang, 2005). Dinas Kesehatan Kabupaten Magelang, 2003, telah melaksanakan spot survei di Desa Giripurno dan Giritengah. Survei tersebut menemukan *An. aconitus*, *An. maculatus* dan *An. kochi*. Nyamuk-nyamuk tersebut belum dikonfirmasi sebagai nyamuk penular malaria di wilayah tersebut (belum ditetapkan kompetensi vektorialnya). *Anopheles aconitus* ditemukan sebagai spesies yang dominan, mungkin ini berasosiasi dengan luasnya persawahan di wilayah tersebut. *Anopheles aconitus* dipastikan sebagai vektor malaria di Jepara, (Kirnowardoyo, 1983), Banjarnegara dan Wonosobo (Kirnowardoyo & Supalin, 1987). *Anopheles maculatus* dan *An. balabacensis* meskipun dalam kepadatan yang lebih rendah akan tetapi juga perlu diwaspadai karena di Purworejo sudah dilaporkan sebagai vektor malaria (Barcus *et al*, 2002). Kompetensi vektorial diartikan sebagai kemampuan spesies nyamuk *Anopheles* sebagai vektor yang efektif dan efisien (Mardihusodo, 1997). Kerentanan nyamuk *Anopheles* terhadap parasit dan sifat antropofilik merupakan

komponen utama dari kompetensi vektorial. Masing-masing komponen tersebut dapat ditentukan berturut-turut dengan mendeteksi sporozoit pada nyamuk (parameternya angka sporozoit) dan mengidentifikasi pakan darah (parameternya *Human Blood Index/ HBI*). Meskipun demikian 2 komponen lain yaitu umur (pendekatannya dengan menghitung angka paritas) dan kepadatan nyamuk tidak boleh diabaikan. Sporozoit *Plasmodium* dapat terdeteksi lebih kurang 10-12 hari setelah nyamuk menghisap darah orang yang terinfeksi (Service and Townson, 2004), akan tetapi juga dipengaruhi oleh suhu dan spesies *Plasmodium* (Service, 1996). Tinggi rendahnya HBI menentukan status nyamuk sebagai vektor primer atau sekunder (Dharmawan, 1993).

Dalam penanggulangan malaria, pengetahuan tentang peran nyamuk *Anopheles* sebagai vektor malaria di suatu daerah sangat penting, karena dapat mengarahkan cara pengendalian yang tepat. Spesies nyamuk dinyatakan sebagai vektor di suatu daerah apabila pernah ditemukan sporozoit di dalam kelenjar ludahnya baik dengan teknik pembedahan maupun Elisa (WHO, 2003). Spesies nyamuk *Anophele* menjadi vektor di suatu daerah belum tentu menjadi vektor di daerah lain (Damar *et al.*, 1997; Marwoto *et al.*, 1992). Status vektor dan identifikasi inang yang menjadi

sumber pakan darah bagi nyamuk *Anopheles* belum banyak dilaporkan di Indonesia, termasuk di Kecamatan Borobudur, baik menggunakan metode konvensional (misalnya dengan pembedahan kelenjar ludah) maupun dengan Elisa untuk mendeteksi antigen sporozoit *P. falciparum* atau *P. vivax*.

Penelitian mengenai inkriminasi vektor malaria dan identifikasi pakan darah nyamuk *Anopheles* spp di Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang diharapkan dapat memberikan informasi yang bermanfaat bagi pengelola program pengendalian vektor malaria di Borobudur, Kabupaten Magelang (Dinas Kesehatan Kabupaten Magelang) dan bagi ilmu pengetahuan. Penelitian ini bertujuan untuk: a). Mendeteksi antigen protein *circum sporozoite* (CS) *P. falciparum* atau *P. vivax* pada nyamuk *Anopheles* spp dari daerah endemis malaria Giripurno dan Giritengah dengan teknik Elisa, b). Mengidentifikasi pakan darah manusia pada nyamuk *Anopheles* spp dari daerah endemis malaria Giripurno dan Giritengah dengan teknik Elisa, c). Menentukan angka paritas nyamuk *Anopheles* spp di Giripurno dan Giritengah, dan d). Menghitung kepadatan nyamuk *Anopheles* spp di Giripurno dan Giritengah.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan rancangan *cross sectional*. Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah: a). Variabel bebas adalah *Anopheles* spp betina di daerah penelitian, b). Variabel terganggu, meliputi angka sporozoit, HBI, kepadatan nyamuk, dan umur nyamuk, dan c). Variabel pengganggu, meliputi curah hujan, suhu, kelembaban, jumlah ternak dan jumlah penduduk. Subyek penelitian adalah nyamuk *Anopheles* spp tersangka vektor di Kecamatan yaitu *An. aconitus*, *An. balabacensis*, dan *An. maculatus* yang memenuhi kriteria inklusi, yaitu nyamuk yang ditangkap istirahat di dalam dan di luar rumah dengan kondisi *blood fed*, *half gravid*, *gravid*, *unfed*, serta sudah pernah bertelur (*parous*) berdasarkan pembedahan ovarium. Unit analisis penelitian ini adalah bagian dada-kepala dan perut nyamuk *Anopheles* spp. Pengambilan sampel dilakukan di Giripurno dan Giritengah, terhadap nyamuk *Anopheles* spp yang istirahat di dalam rumah dan di luar rumah pada malam hari (18.00-24.00) dan pagi hari (pukul 06.00-08.00). Koleksi nyamuk dilakukan sesuai dengan metode WHO (2003). Data dianalisis dengan regresi untuk mengetahui adanya hubungan antar berbagai variabel. Untuk membandingkan hasil penelitian di daerah penelitian (Giripurno dan Giritengah) dilakukan uji t.

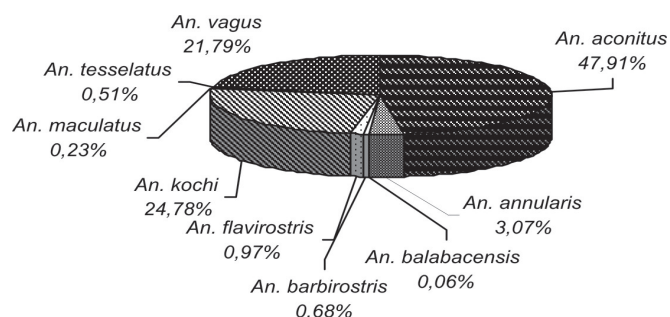
Pengumpulan data di lapangan dilakukan dengan menangkap nyamuk yang istirahat di dalam dan luar

rumah pada malam dan pagi hari di kedua desa masing-masing 9 kali dari bulan Januari-Mei 2006 dengan interval waktu 2 minggu sekali. Nyamuk diidentifikasi untuk menentukan spesies dengan menggunakan kunci identifikasi O'Connordan Soepanto (1979), dan kemudian menghitung kepadatannya. Masing-masing spesies *Anopheles* dipisahkan dari spesies yang lain, dibedah ovariumnya untuk menentukan paritas dan pemeriksaan kondisi perut. *Anopheles* spp *parous* (semua kondisi perut), diambil bagian dada-kepala digunakan untuk Elisa sporozoit yang menentukan kerentanan nyamuk tersebut terhadap *P. falciparum* atau *P. vivax*, dilakukan menurut metode Wirtz, 2007. Selebihnya, *Anopheles* spp *parous* dengan kondisi perut *blood fed* dan *half gravid*, diambil bagian perutnya digunakan untuk Elisa pakan darah yang menentukan sifat nyamuk tersebut antropofilik atau zoofilik, dilakukan menurut metode Small (1998). Proses identifikasi spesies, penghitungan kepadatan dan angka paritas serta pembuatan apusan darah pada kertas Whatman dilakukan di lokasi penangkapan, sedangkan untuk Elisa sporozoit dan pakan darah dilakukan di Laboratorium Entomologi, Imunologi dan Biologi molekuler B2P2VRP Salatiga. Selain itu juga dikumpulkan data sekunder berupa data geografi, topografi, demografi, data penderita malaria dari Puskesmas Borobudur atau Dinas Kesehatan Kabupaten Magelang dan data klimatologis.

HASIL

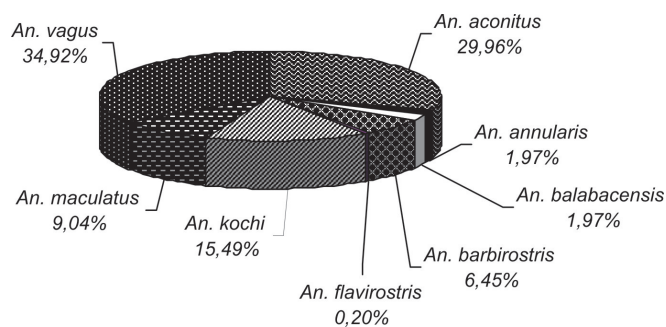
1. Fauna nyamuk *Anopheles* di daerah penelitian

Nyamuk *Anopheles* yang berhasil ditangkap di Desa Giripurno, sebanyak 3515 ekor, terdiri dari 9 spesies yaitu: *An. aconitus* (1684 ekor), *An. annularis* (108 ekor), *An. balabacensis* (2 ekor), *An. barbirostris* (24 ekor), *An. flavirostris* (34 ekor), *An. kochi* (871 ekor), *An. maculatus* (8 ekor), *An. tessellatus* (18 ekor) dan *An. vagus* (766 ekor). Proporsi setiap spesies nyamuk yang tertangkap di Desa Giripurno, secara visual disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Proporsi nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat di Desa Giripurno,

Nyamuk *Anopheles* yang tertangkap di Desa Giritengah, sebanyak 1472 ekor, terdiri dari 8 spesies yaitu: *An. aconitus* (441 ekor), *An. annularis* (29 ekor), *An. balabacensis* (29 ekor), *An. barbirostris* (95 ekor), *An. flavirostris* (3 ekor), *An. kochi* (228 ekor), *An. maculatus* (133 ekor), dan *An. vagus* (514 ekor). Proporsi setiap spesies nyamuk yang tertangkap di Desa Giritengah, Kecamatan Borobudur secara visual disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Proporsi nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat di Desa Giritengah.

2. Kepadatan nyamuk *Anopheles* spp

a. Malam hari

Kepadatan nyamuk *Anopheles* spp yang istirahat di luar rumah dan di dalam rumah pada malam hari di Desa Giripurno dan Giritengah disajikan pada Tabel 1. Kepadatan *An. aconitus*, *An. barbirostris*, dan *An. maculatus* yang tertangkap istirahat pada malam hari di di luar rumah lebih tinggi daripada di dalam rumah di Giripurno dan Giritengah, akan tetapi secara statistik perbedaan tersebut tidak bermakna ($P > 0,05$). *Anopheles balabacensis* ditemukan lebih tinggi di dalam rumah daripada di luar rumah di Desa Giripurno.

b. Pagi hari

Hasil penangkapan nyamuk di Giripurno dan Giritengah pada pagi hari menunjukkan bahwa *Anopheles* spp lebih banyak istirahat di habitat aslinya di luar rumah (irigasi dan vegetasi) daripada di dalam rumah (Tabel 2). Nyamuk *An. balabacensis* tidak ditemukan pada penangkapan pagi hari di Giripurno, sedangkan *An. maculatus* tidak ditemukan pada pagi hari di Giritengah. Kepadatan *An. aconitus* yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Giripurno lebih tinggi secara bermakna dibanding dengan Giritengah ($P < 0,05$).

Tabel 1. Kepadatan nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat pada malam hari di Desa Giripurno dan Giritengah

Spesies	TP	GIRIPURNO					Rata-rata
		Kepadatan nyamuk (per orang / jam)					
		Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	
<i>An. aconitus</i>	LR	12,00	44,16	32,83	62,33	23,91	37,61
	DR	0,00	0,16	0,16	0,88	1,41	0,58
<i>An. barbirostris</i>	LR	0,00	1,50	0,00	0,33	0,33	0,48
	DR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,08
<i>An.balabacensis</i>	LR	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,01
	DR	0,00	0,00	0,00	0,16	0,16	0,07
<i>An. maculatus</i>	LR	0,33	0,16	0,16	0,16	0,16	0,18
	DR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
GIRITENGAH							
<i>An. aconitus</i>	LR	37,00	37,50	2,61	1,78	1,58	13,77
	DR	0,00	1,16	0,50	0,00	0,00	0,37
<i>An..barbirostris</i>	LR	1,50	5,00	0,91	0,39	4,50	2,56
	DR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,02
<i>An.balabacensis</i>	LR	1,50	1,67	0,72	0,16	0,24	0,78
	DR	0,00	0,00	0,00	0,06	0,08	0,03
<i>An. maculatus</i>	LR	17,50	9,83	1,80	0,39	0,83	4,80
	DR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,04

Keterangan: TP = Tempat penangkapan, LR = Luar rumah, DR = Dalam rumah

Tabel 2. Kepadatan nyamuk *Anopheles* spp tersangka vektor yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Desa Giripurno dan Giritengah, Borobudur

Spesies	GIRIPURNO						Rata-rata
	TP	Kepadatan nyamuk (per orang / jam)					
		Jan	Peb	Mar	Apr	Mei	
An. aconitus	IR	4,16	16,00	28,58	26,37	14,25	19,40
	VG	0,00	0,62	0,00	0,00	0,00	0,14
	DR	0,50	0,29	0,50	0,12	0,25	0,31
An. barbirostris	IR	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,05
	VG	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,05
	DR	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,04
An. maculatus	IR	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,03
	VG	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,03
	DR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
GIRITENGAH							
An. aconitus	IR	0,25	2,50	0,75	0,12	0,00	0,78
	VG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	DR	0,00	0,08	0,25	0,12	0,00	0,10
An..barbirostris	IR	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	VG	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25	0,27
	DR	0,25	0,25	0,25	0,00	0,00	0,13
An.balabacensis	IR	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02
	VG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	DR	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,02

Keterangan: TP = Tempat penangkapan, IR = Irigasi, VG = Vegetasi, DR = Dalam rumah

3. Pengukuran angka paritas nyamuk *Anopheles* spp

Nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat di luar rumah dan di dalam rumah pada malam hari dan pagi hari, dilakukan pembedahan ovarium untuk menentukan angka paritas guna mengukur potensi nyamuk tersebut dalam menularkan malaria di lokasi penelitian.

a. Malam hari

Hasil pembedahan ovarium terhadap *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat pada malam hari di Desa

Giripurno dan Giritengah, Borobudur, terlihat bahwa *An. aconitus*, *An. barbirostris*, dan *An. maculatus* mempunyai angka paritas lebih tinggi di luar rumah dibanding dengan di dalam rumah, dan angka paritas nyamuk tersebut di Giripurno lebih tinggi secara bermakna dibanding dengan di Giritengah ($P < 0,05$). *An. balabacensis* menunjukkan angka paritas lebih tinggi di dalam rumah dibanding di luar rumah di Desa Giripurno (Tabel 3).

Tabel 3. Angka paritas nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat pada malam hari di Giripurno dan Giritengah

Lokasi	Spesies	Angka paritas (%) [*]		Jumlah (%)
		Luar rumah	Dalam rumah	
Giripurno	<i>An. aconitus</i>	863/1209 (71,38)	17/25 (68,00)	880/1234 (71,31)
	<i>An. barbirostris</i>	9/13 (69,23)	2/6 (33,33)	11/19 (57,89)
	<i>An. balabacensis</i>	0/0 (0,00)	2/2 (100,00)	2/2 (100,00)
	<i>An. maculatus</i>	4/6 (66,67)	0/0 (0,00)	4/6 (66,67)
Giritengah	<i>An. aconitus</i>	187/406 (46,06)	2/16 (12,50)	192/422 (45,49)
	<i>An. barbirostris</i>	49/83 (59,04)	0/1 (0,00)	49/84 (58,33)
	<i>An. balabacensis</i>	18/24 (75,00)	3/4 (75,00)	21/28 (75,00)
	<i>An. maculatus</i>	75/131 (57,25)	1/2 (50,00)	76/133 (57,14)
Uji T antara angka paritas <i>Anopheles</i> spp pada malam hari di Giripurno dan Giritengah, $P < 0,05$				

^{*} = jumlah nyamuk parous dibagi dengan jumlah nyamuk yang diperiksa ovariumnya.

b. Pagi hari

Hasil pembedahan ovarium nyamuk *An. aconitus* yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Desa Giripurno, terlihat bahwa paritas *An. aconitus* sebesar 70,55 %, 60,00 % dan 71,43 % masing-masing di saluran irigasi, vegetasi dan di dalam rumah (Tabel 4). Hasil pembedahan ovarium nyamuk *An. aconitus* yang tertangkap istirahat pada pagi hari di Desa Giritengah, menunjukkan bahwa paritas *An. aconitus* sebesar 3,33 % di saluran irigasi, tidak ditemukan di vegetasi dan 10,00 % di dalam rumah. *Anopheles barbirostris* ditemukan di Giripurno dan di Giritengah dengan angka paritas 50,00-100,00% dan 60,00-83,33%. *Anopheles balabacensis* hanya ditemukan di Giritengah (dalam rumah) dengan angka paritas 100,00%. *Anopheles maculatus* hanya ditemukan di Giripurno (saluran irigasi) dengan angka paritas 100,00%. Angka paritas *Anopheles* spp yang tertangkap pagi hari di Giripurno lebih tinggi secara bermakna dibanding di Giritengah ($P < 0,05$)

4. Pemeriksaan sporozoit *Plasmodium* pada

nyamuk *Anopheles* spp dengan teknik Elisa

Hasil pemeriksaan sporozoit *Plasmodium* pada nyamuk *An. aconitus* dari Desa Giripurno dan Giritengah, masing-masing disajikan pada Tabel 5. Pada Tabel 5 terlihat bahwa sebanyak 1395 *An. aconitus* dari Desa Giripurno, 1 positif mengandung *P. falciparum* dengan angka sporozoit sebesar 0,07 % dan tidak mengandung *P. vivax*. Sebanyak 206 ekor *An. aconitus* dari Desa Giritengah, menunjukkan hasil sporozoit negatif baik untuk *P. falciparum* maupun *P. vivax*. *An. balabacensis* dari Desa Giritengah ditemukan positif mengandung *P. falciparum* tetapi menunjukkan hasil negatif untuk *P. vivax*. Tidak terdeteksi adanya sporozoit pada nyamuk *An. maculatus* dan *An. barbirostris* dari Giripurno dan Giritengah.

Analisis regresi menunjukkan bahwa angka paritas dan kepadatan *An. aconitus* tidak ada hubungan dengan angka sporozoit ($R^2 = 0,032$ dan $P > 0,05$). Demikian

Tabel 4. Angka paritas nyamuk *Anopheles* spp yang tertangkap istirahat pagi hari di Giripurno dan Giritengah

Lokasi	Spesies	Angka paritas (%)*			Jumlah
		Irigasi	Vegetasi	Dalam rumah	
Giripurno	<i>An. aconitus</i>	309/438 (70,55)	3/5 (60,00)	5/7 (71,43)	317/450 (70,44)
	<i>An. barbirostris</i>	1/2 (50,00)	1/2 (50,00)	1/1 (100,00)	3/5 (60,00)
	<i>An. balabacensis</i>	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)
	<i>An. maculatus</i>	1/1 (100,00)	0/1 (0,00)	0/0 (0,00)	1/1 (100,00)
Giritengah	<i>An. aconitus</i>	2/16 ()	0/0 (0,00)	1/3 (33,33)	3/19 (15,79)
	<i>An. barbirostris</i>	0/0 (0,00)	3/5 (60,00)	5/6 (83,33)	8/11 (72,73)
	<i>An. balabacensis</i>	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)	1/1 (100,00)	1/1 (100,00)
	<i>An. maculatus</i>	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)	0/0 (0,00)

Uji t antara angka paritas *Anopheles* spp pada pagi hari di Giripurno dan Giritengah, $P < 0,05$

* = jumlah nyamuk parous dibagi dengan jumlah nyamuk yang diperiksa ovariumnya.

Tabel 5. Hasil pemeriksaan ELISA sporozoit *Plasmodium* pada nyamuk *Anopheles* spp dari desa Giripurno dan Giritengah, Borobudur, dirinci menurut kondisi abdomen dan waktu penangkapan

Spesies	GIRIPURNO													AS (%)
	Unfed		Fed		Half gravid		Gravid		Jumlah		Total	SP		
	M	P	M	P	M	P	M	P	M	P		P. f	P. v	
An. aconitus	626	20	249	278	5	19	0	198	880	515	1395	1*	0	0,07
An. barbirostris	3	1	8	2	0	1	0	1	11	5	16	0	0	0
An. balaba-censis	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0
An. maculatus	3	0	1	1	0	0	0	0	4	1	5	0	0	0
J u m l a h	634	21	258	281	5	20	0	199	897	521	1418	1	0	0,07
GIRITENGAH														
An. aconitus	126	2	62	1	4	0	0	11	192	14	206	0	0	0
An. barbirostris	35	5	14	3	0	0	0	1	49	9	58	0	0	0
An. balaba-censis	15	0	7	1	0	0	0	1	22	2	24	1*	0	4,17
An. maculatus	71	0	5	0	0	0	0	0	76	0	76	0	0	0
J u m l a h	247	7	88	5	4	0	0	13	339	25	364	1	0	0

Keterangan:

M = malam hari, P = pagi hari, SP = sporozoit positif, AS = angka sporozoit, *Pf* = *P. falciparum*, *Pv* = *P. vivax*, * = dari penangkapan malam hari di luar rumah dalam kondisi *fed*

juga dengan *An. balabacensis* menunjukkan kecenderungan yang hampir sama ($R^2 = 0,041$ dan $P > 0,05$). Meningkatnya angka paritas dan kepadatan tidak diikuti oleh meningkatnya angka sporozoit.

5. Identifikasi pakan darah pada nyamuk *Anopheles* spp dengan teknik Elisa

Hasil pemeriksaan sampel darah pada nyamuk *An. aconitus* yang positif menghisap darah manusia disajikan pada Tabel 6. Dari Tabel 6 dapat dilihat bahwa di Desa Giripurno diperoleh 551 apusan darah yang dipencet dari perut nyamuk *An. aconitus*, sebanyak 57 di antaranya positif menghisap darah manusia. HBI untuk nyamuk *An. aconitus* sebesar 10,34 %. Koleksi nyamuk di Desa Giritengah diperoleh *An. aconitus* (67 apusan darah), sebanyak 4 positif menghisap darah manusia. HBI nyamuk *An. aconitus*, sebesar 5,97 %. Proporsi nyamuk *An. aconitus* yang menghisap darah manusia (HBI) di Desa Giritengah dan Giripurno relatif rendah yaitu sekitar 5,97% - 10,34%. *Anopheles barbirostris* dan *An. balabacensis* dari Giritengah menunjukkan HBI masing-masing sebesar 5,88% dan 37,50%, Hal tersebut menunjukkan bahwa hanya sebagian dari populasi ketiga spesies nyamuk tersebut bersifat antropofilik. Analisis regresi (untuk *An. aconitus*) menunjukkan tidak ada hubungan antara angka paritas dan HBI di Giripurno ($R^2 = 0,569$; $P > 0,05$) dan Giritengah ($R^2 = 0,014$; $P > 0,05$).

luar rumah sebesar 23,79°C dan di dalam rumah sebesar 24,35°C, sedangkan di Giritengah, suhu udara di luar rumah sebesar 23,97°C dan di dalam rumah sebesar 24,55°C. Di Giripurno, kelembaban relatif rata-rata di luar rumah sebesar 93,23 % dan di dalam rumah sebesar 91,60 %, sedangkan di Giritengah, kelembaban rata-rata di luar rumah sebesar 90,79 % dan di dalam rumah sebesar 88,88 %.

PEMBAHASAN

Nyamuk *An. aconitus* di daerah penelitian merupakan spesies dominan melebihi spesies lain yang merupakan tersangka vektor di Kecamatan Borobudur. Akan tetapi spesies lain seperti *An. maculatus* dan *An. balabacensis* perlu juga mendapat perhatian karena di Banjarnegara sudah terbukti sebagai vektor (Pranoto dan Prasetyo, 1991). *Anopheles aconitus* di Giripurno dan Giritengah lebih banyak ditemukan beristirahat di luar rumah daripada di dalam rumah pada malam hari. Hal tersebut menunjukkan bahwa *An. aconitus*, *An. maculatus* dan *An. barbirostris* lebih memilih tempat istirahat sementara di luar rumah seperti hinggap di semak-semak atau di tumpukan jerami sebelum atau sesudah mencari darah, sedangkan *An. balabacensis* lebih memilih istirahat di dalam rumah. Secara naluri nyamuk akan mencari tempat berlindung yang aman jauh dari gangguan sebelum atau sesudah menemukan

Tabel 6. Proporsi *Anopheles* spp dari Desa Giripurno dan Giritengah yang menghisap darah manusia diuji dengan teknik Elisa

Spesies	Jumlah sampel diperiksa (jumlah sampel positif)					Total sampel	HBI (%)
	Malam hari		Pagi hari				
	LR	DR	IR	VG	DR		
Giripurno							
An. aconitus	249(28)	6(1)	287(27)	3(0)	6(1)	551(57)	10,34
An. barbirostris	7(0)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0
An. balabacensis	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0
An. maculatus	1(0)	0(0)	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0
Giritengah							
An. aconitus	63(3)	2(0)	1(0)	0(0)	1(1)	67(40)	5,97
An. barbirostris	14(1)	0(0)	0(0)	3 (0)	0(0)	17 (1)	5,88
An. balabacensis	8(3)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8 (3)	37,50
An. maculatus	5(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0)	0

Keterangan: LR = Luar rumah, DR = Dalam rumah, IR = Irigasi, VG = Vegetasi

6. Pengukuran suhu udara dan kelembaban relatif

Selama penelitian dilakukan pengukuran terhadap suhu udara untuk mengetahui hubungannya dengan kepadatan populasi *Anopheles* sp yang istirahat di dalam dan di luar rumah. Di Giripurno, suhu rata-rata di

inangnya. Kemungkinan bahwa semak-semak dan tumpukan jerami merupakan tempat istirahat yang aman bagi *An. aconitus*, *An. maculatus* dan *An. barbirostris*.

Pada pagi hari, penangkapan dilakukan terhadap *Anopheles* spp, yang istirahat di dalam rumah dan di luar

rumah, di habitat aslinya antara lain di sepanjang saluran irigasi (lubang-lubang tanah di tebing, sampah/ seresah) dan vegetasi (semak-semak, rumpun bambu) yang masih berada dalam jarak jangkauan terbang nyamuk. Terlihat bahwa *An. Aconitus*, *An. maculatus* dan *An. barbirostris* lebih banyak ditemukan istirahat di luar rumah (saluran irigasi dan vegetasi) daripada di dalam rumah, meskipun secara statistik hasil tangkapan di ketiga tempat tersebut tidak bermakna. Hal tersebut menggambarkan bahwa *An. aconitus*, *An. maculatus* dan *An. barbirostris* memilih tempat istirahat yang sebenarnya di luar rumah di habitat aslinya untuk proses pemasakan telur demi kelangsungan hidupnya. Hal ini dimungkinkan bahwa *An. aconitus*, *An. maculatus* dan *An. barbirostris* mencari tempat istirahat mendekati tempat perindukan untuk kepentingan peletakan telur. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Joshi *et al.*, (1977) di Kecamatan Ungaran, Kabupaten Semarang yang menemukan bahwa *An. aconitus* lebih banyak istirahat di habitat aslinya di luar rumah untuk pemasakan telurnya.

Suhu udara sekitar 24°C mendukung siklus sporogoni *P. falciparum* dalam waktu 11 hari, *P. vivax* selama 9 hari, *P. ovale* selama 15 hari dan *P. malariae* selama 21 hari (Service, 1996). Dimungkinkan bahwa suhu udara di Desa Giripurno dan Giritengah ideal bagi perkembangan sporozoit *Plasmodium* dalam tubuh nyamuk *Anopheles*.

Pengukuran kelembaban udara dilakukan untuk mengetahui pengaruh kelembaban relatif terhadap kepadatan populasi *Anopheles sp* yang istirahat di dalam dan di luar rumah. Di Giripurno, kelembaban relatif rata-rata di luar rumah sebesar 93,23 % dan di dalam rumah sebesar 91,60 %, sedangkan di Giritengah, kelembaban rata-rata di luar rumah sebesar 90,79 % dan di dalam rumah sebesar 88,88 %. Hal ini merupakan salah satu faktor yang ideal bagi perkembangan parasit *Plasmodium* di dalam tubuh nyamuk.

Rendahnya angka sporozoit di Giripurno dan Giritengah bukan berarti transmisi malaria tidak terjadi. Transmisi malaria tetap ada, terbukti dengan ditemukannya penderita malaria selama penelitian berlangsung di kedua desa tersebut secara mikroskopis. Kemungkinan bahwa jumlah parasit yang masuk ke tubuh nyamuk tidak cukup dan tidak berada pada stadium yang matang untuk memasuki siklus seksual dan tidak dapat mencapai stadium infektif di kelenjar ludah (Dharmawan, 1993). Adanya intervensi pengobatan terhadap penderita malaria di kedua desa tersebut mungkin berakibat rendahnya produksi sporozoit pada nyamuk (Bangs, 1989). Kemungkinan lain jumlah sampel *Anopheles spp* yang diperiksa sporozoitnya kurang mencukupi untuk dapat ditemukannya sporozoit dengan angka sporozoit yang tinggi.

Kepadatan gametosit bukan merupakan faktor tunggal dalam infeksi nyamuk. Dua puluh persen (20 %) karier dengan kepadatan gametosit yang cukup, bahkan tinggi sekalipun gagal menginfeksi nyamuk. Variabel-variabel yang menentukan daya infeksi gametosit adalah jumlah gametosit jantan dan bentuk aseksualnya, ada tidaknya antibodi yang mampu menghentikan atau mendorong kelanjutan infeksi dan penggunaan obat anti malaria. Parasitemia aseksual yang tinggi dapat menimbulkan toksifikasi darah dan faktor-faktor imun yang mengganggu daya infeksi gametosit (Dharmawan, 1993).

Penggunaan teknik Elisa dan *immunoradiometric* untuk mendeteksi sporozoit pada nyamuk yang ditangkap dari lapangan direkomendasikan oleh WHO sejak tahun 1987 (WHO (2003). Penggunaan teknik Elisa di Irian Jaya (diambil bagian dada-kepala) menunjukkan hasil 6 kali lebih banyak mendeteksi sporozoit positif dibandingkan dengan pembedahan kelenjar ludah secara mikroskopik (Bangs, 1989). Teknik Elisa dapat mendeteksi sporozoit yang matang (*mature*). Untuk mengurangi kesalahan positif dianjurkan menggunakan bagian dada-kepala agar mendapatkan korelasi yang lebih baik terhadap angka sporozoit dari kelenjar ludah (Wirtz *et al.*, 1987). Sejalan dengan perkembangan dunia penelitian, telah dilaporkan bahwa 50 % sporozoit *P. falciparum* ada dalam kelenjar ludah 2-3 minggu setelah terinfeksi. Selain itu juga menemukan bahwa jumlah sporozoit yang ada pada toraks selalu jauh lebih rendah dibandingkan dengan bagian-bagian lain yang dapat terdeteksi oleh Elisa, dan disimpulkan bahwa positivitas antigen CS kemungkinan yang paling besar ditemukan pada kelenjar ludah (Bangs, 1989). Penemuan lain secara *in vitro* menunjukkan bahwa jumlah terbesar protein CS pada kelenjar ludah disebabkan oleh adanya reseptor spesifik pada kelenjar ludah yang dapat dikenali oleh sporozoit. Protein CS akan terikat pada bagian distal lateral dan lobus median dari kelenjar ludah dan tidak terikat pada organ-organ lain seperti usus tengah (*midgut*), ovarium dan tubulus Malphigi. Hal tersebut diperkuat dengan penelitian secara *in vivo* dengan menginjeksikan protein CS rekombinan ke dalam hemocoel nyamuk *An. stephensi* dan pengikatan secara spesifik terdeteksi hanya pada kelenjar ludah (Sidjanski *et al.*, 1997)

Proporsi nyamuk *Anopheles spp* yang menghisap darah manusia (HBI) di Desa Giripurno dan Giritengah relatif rendah yaitu sekitar 5,88% - 37,50% menunjukkan bahwa *An. aconitus*, *An. barbirostris*, dan *An. balabacensis* di desa tersebut lebih zoofilik daripada antropofilik atau bersifat zooantropofilik. Banerjee *et al.*, (1991) melaporkan bahwa perbedaan perilaku nyamuk menghisap darah berhubungan erat dengan kondisi lingkungan setempat. Penemuan ini diperkuat oleh hasil

penelitian Burkot *et al.*, (1989) yang melaporkan bahwa pola makan (menghisap darah) nyamuk *Anopheles* secara langsung berhubungan dengan kondisi lingkungan area penelitian. Frekuensi menghisap darah berhubungan dengan siklus gonotropik dan waktu menghisap darah. Makin pendek siklus gonotropik makin sering nyamuk harus menghisap darah untuk siklus berikutnya. Seekor nyamuk vektor paling sedikit harus menghisap darah 2 kali untuk dapat menularkan penyakit. Pertama pada saat menghisap darah bersama dengan parasit dan kedua adalah pada saat memasukkan parasit ke tubuh orang lain. Pemilihan inang oleh nyamuk vektor dipengaruhi oleh 3 faktor antara lain (a). sifat hubungan spesifik inang dan vektor, (b). tersedianya inang termasuk ukuran, jumlah, kebiasaan dan lingkungan, serta (c). pola terbang dan ekologi vektor (Dharmawan, 1993). Dalam hubungannya dengan status vektor, nilai HBI *Anopheles* spp di Giripurno dan Giritengah tidak menggambarkan sebagai vektor primer. Untuk mencapai status vektor primer tersebut paling tidak nilai HBI mencapai 50% atau lebih (Dharmawan, 1993), meskipun diketahui bahwa HBI bukanlah faktor tunggal yang menentukan nyamuk sebagai vektor. Loyola *et al.*, (1993) mengatakan bahwa tersedianya sejumlah inang bukanlah satu-satunya faktor yang mempengaruhi pilihan inang oleh nyamuk. Faktor-faktor lain seperti musiman (*seasonality*), kepadatan nyamuk, penyemprotan dengan insektisida, struktur/tipe rumah, penerimaan inang (*host accessibility*), kondisi lingkungan dan metode sampling yang memungkinkan terjadinya variasi dalam pengamatan terhadap HBI. Penyemprotan rumah mempunyai pengaruh terhadap pola menghisap darah dari populasi vektor, demikian pula kebiasaan penanganan ternak oleh penduduk. HBI rendah bila ternak diletakkan pada kandang yang berdekatan dengan tempat tinggal manusia. WHO (2001) melaporkan bahwa kontak antara vektor dan manusia dipengaruhi oleh lokasi tempat tinggal, konstruksi bangunan rumah, pola aktivitas vektor dan manusia, kebiasaan tidur penduduk dan tersedianya binatang. Keadaan ini serupa dengan kondisi di Desa Giripurno dan Giritengah yang menempatkan sapi atau kambing di kandang yang letaknya sangat dekat dengan rumah tinggal penduduk. Demikian pula konstruksi rumah yang tidak memadai di kedua desa tersebut memungkinkan nyamuk bebas keluar masuk rumah untuk mencari darah. Kebiasaan penduduk berada di luar rumah pada malam hari dan tidur tanpa menggunakan kelambu, sehingga hal tersebut dapat mempengaruhi terjadinya variasi dalam nilai HBI. Analisis regresi antara kepadatan dan HBI *An. aconitus* menunjukkan tidak ada hubungan baik di Giripurno ($R^2 = 0,548$; $P > 0,05$) maupun di Giritengah ($R^2 = 0,289$; $P > 0,05$). Berarti bahwa meningkatnya

kepadatan tidak diikuti oleh meningkatnya nilai HBI. Hal tersebut dimungkinkan karena kepadatan nyamuk selalu dipengaruhi oleh nyamuk yang baru muncul dan belum pernah bertelur (nulliparous) yang pada penelitian ini tidak diikutsertakan dalam pemeriksaan Elisa pakan darah.

Berdasarkan analisis regresi menunjukkan tidak adanya hubungan antara rata-rata kepadatan *An. aconitus* dan angka paritas baik di Giripurno ($R^2 = 0,388$; $P > 0,05$) maupun di Giritengah ($R^2 = 0,381$; $P > 0,05$). Artinya bahwa hanya 38,80 % dan 38,10 % angka paritas *An. aconitus* di Giripurno dan Giritengah yang dapat dijelaskan melalui variabel kepadatan, selebihnya disebabkan oleh variabel lain yang tidak dapat dikendalikan dan tidak diketahui secara pasti. Hal tersebut menunjukkan bahwa meningkatnya kepadatan nyamuk yang istirahat pada malam dan pagi hari tidak selalu diikuti oleh meningkatnya angka paritas, karena kepadatan selalu dipengaruhi oleh nyamuk yang baru muncul dan belum pernah bertelur (nulliparous). Menurut WHO, (2001) lama hidup nyamuk /umur nyamuk dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembaban relatif, angin, vegetasi dan inang. Bruce-Chwatt, (1985) mengatakan bahwa kepadatan populasi nyamuk *Anopheles* sangat dipengaruhi oleh perubahan suhu, kelembaban relatif dan curah hujan. Tampaknya faktor-faktor lingkungan tersebut ditambah dengan luasnya areal persawahan juga berperan mendukung relatif tingginya kepadatan *An. aconitus* di Desa Giripurno dan Giritengah. Suhu dan kelembaban rata-rata di dua daerah penelitian tersebut tampaknya ideal untuk perkembangan *An. aconitus* stadium pra dewasa dan dewasa. Akan tetapi populasi spesies *Anopheles* yang lain kepadatannya tidak setinggi *An. aconitus*.

KESIMPULAN

1. Nyamuk *An. aconitus* dari Desa Giripurno dan *An. balabacensis* dari Giritengah dapat mendukung perkembangan parasit *P. falciparum* dengan angka sporozoit masing-masing sebesar 0,07 % dan 4,16 %.
2. *Anopheles* spp di Kecamatan Borobudur bersifat zooantropofilik dengan nilai HBI berkisar antara 5,88-37,50%.
3. Angka paritas *An. aconitus* di Giripurno lebih tinggi dibanding dengan di Giritengah, sebaliknya *An. balabacensis* lebih tinggi di Giritengah dibanding dengan di Giripurno.
4. Rata-rata kepadatan *An. aconitus* di Giripurno lebih tinggi secara bermakna dibanding dengan di Giritengah, sebaliknya *An. balabacensis* lebih tinggi di Giritengah dibanding dengan di Giripurno.

5. Tidak ada hubungan antara kepadatan, paritas dengan angka sporozoit dan HBI *An. aconitus* dan *An. balabacensis* di Giripurno dan Giritengah.
6. Nyamuk *An. aconitus* dan *An. balabacensis* berperan sebagai vektor malaria di Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang.

TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya ditujukan kepada Kepala Dinas Kesehatan Kabupaten Magelang dan staf, Kepala Puskesmas Borobudur, dan tim B2P2VRP Salatiga yang sudah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Banerjee, PK., KN. Ghosh and RN. Chatterjee, 1991. Gel diffusion analysis of host reference pattern of *An. subpictus* in West Bengal, India. *Indian J. Malariol.* 28: 157-159.
2. Bangs, M.J., 1989. The sporozoite enzyme-linked immunosorbent assay: application in malaria epidemiology. *Bul. Penelit. Kesehat.* 17(2): 197-205.
3. Barcus MJ, F. Laihad, M. Sururi, P. Sismadi, H. Marwoto, MJ. Bangs and JK. Baird. Epidemic malaria in the Menoreh Hills of Central Java. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002. 287-292.
4. Beier, J.C., P.V. Perkins, R.A. Wirtz, J. Koros, D. Diggs, T.P. Gargan II and D.K. Koech, 1988. Bloodmeal identification by direct Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. *J. Med. Entomol.* 25(1): 8-16.
5. Bruce-Chwatt, L.J., 1985. *Essential Malariology*. William Heinemann Medical Books Ltd., London.
6. Burkot, T.R., W.G. Goodman and G.R. De Foliart, 1984. Identification of mosquito blood meals by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1336-1341.
7. Burkot, T.R., P.M. Graves, J.A. Cattan, R.A. Wirtz and F.D. Gibson, 1987. The efficiency of sporozoite transmission in the human malarias, *P. falciparum* and *P. vivax*. *Bull. of the WHO*, 65(3): 375-380.
8. Damar, T.B., S. Nalim, T. Sularto, Mujiyono dan Sukarno, 1997. Penentuan vektor malaria di Kecamatan Teluk Dalam, Nias. *Maj. Parstlg. Ind.* 10(1): 23-32.
9. Dharmawan, R., 1993. Metoda identifikasi spesies kembar nyamuk *Anopheles*. Sebelas Maret Univ. Press, hal. 45-60.
10. Dinkes Kab. Magelang. 2005. Profil Kesehatan Kabupaten Purworejo.
11. Joshi, P., L.S. Self, S. Usman, C.P. Pant, M.J. Nelson and Supalin, 1977. Ecological studies on *An. aconitus* in the Semarang area of Central Java, Indonesia. WHO/VBC/77.677. 14 p.
12. Kirnowardoyo, S., 1983. Rekonfirmasi *An. aconitus* (Donitz) sebagai vector malaria di Jawa Tengah. *Seminar Parasitologi Nasional III*, Bandung.
13. Kirnowardoyo, S. dan Supalin, 1987. Arti dan manfaat ternak untuk pengendalian *An. aconitus*, Donitz dalam program pemberantasan malaria di Jawa Tengah. *Prosiding Kongres Entomologi II*. Perhimpunan Entomologi Indonesia, Jakarta, 747-752.
14. Loyola, E.G., L. Gonzalez-Ceron, M.H. Rodriguez, J.I. Arredondo-Jimenez, S. Bennett and D.N. Bown, 1993. *An. albimanus* (Diptera: Culicidae) host selection patterns in three ecological areas of the coastal plains of Chiapas, Southern Mexico. *J. Med. Entomol.* 30(3): 518-523.
15. Mardihusodo, S.J., 1997. Vektor malaria dan penanggulangannya. *Jurnal Kedokteran YARSI* 5(1): 32-49.
16. Marwoto H.A., S. Atmosoedjono dan R.M. Dewi, 1992. Penentuan vektor malaria di Flores. *Bul. Penelit. Kesehat.* 20(3): 43-49.
17. O'Connor, C.T. dan A. Soepanto, 1979. *Kunci bergambar untuk Anopheles betina dari Indonesia*. Dit. Jen. P3M, Depkes. RI, Jakarta.
18. Pranoto dan P. Prasetyo, 1991. Konfirmasi *An. balabacensis* Baisas sebagai vektor malaria dan *An. maculatus* Theobald sebagai tersangka vektor malaria di Banjarnegara, Jawa Tengah. *Berita Epidemiologi Jawa Tengah*, No. 01-03/BE/PP/OECF/1991.
19. Service, M.W., 1996. *Medical Entomology*. Chapman & Hall, London.
20. Service, MW and H. Townson. 2004. *The Anopheles vector*. In Warrel D and HM. Gilles. 2004. *Essential malariology*.
21. Sidjanski, S., J.P. Vandenberg and P. Sinnis, 1997. Program and abstracts of the 46th annual meeting of the American Society of Trop. Med. And Hyg. *Suppl. To the Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 57 (3): 264p.
22. WHO, 2001. Vectors and vector-borne diseases. Module 1- Leaner's Guide. 38 p.
23. WHO, 2003. Malaria entomology and vector control. Leaner's guide. WHO HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria, rollback malaria. Trial Ed. WHO/CDS/CPE/SMT/2002. 18 Rev.1. Part 1.
24. Wirtz, R.A., T.R. Burkot, P.M. Graves and R.G. Andre, 1987. Field evaluation of Enzyme-linked Immunosorbent Assays for *P. falciparum* and *P. vivax* sporozoites in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from Papua New Guinea. *J. Med. Entomol.* 24 (4): 433-437.
25. Wirtz, R.A. 2007. Sporozoite Elisa direction.. Entomol. Branch. CDC and Prevention, N.E., USA.